

⑩ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑫ Übersetzung der
europäischen Patentschrift
⑬ EP 0 493 137 B 1
⑭ DE 691 30 251 T 2

⑮ Int. Cl. 5:
C 07 K 14/00
H 01 B 1/20
H 01 B 1/22
H 01 B 1/24
H 01 B 3/18

⑯ Deutsches Aktenzeichen: 691 30 251.0
⑯ Europäisches Aktenzeichen: 91 312 089.5
⑯ Europäischer Anmeldetag: 30. 12. 91
⑯ Erstveröffentlichung durch das EPA: 1. 7. 92
⑯ Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: 23. 9. 98
⑯ Veröffentlichungstag im Patentblatt: 27. 5. 99

⑰ Unionspriorität:

409457/90 28. 12. 90 JP
293092/91 08. 11. 91 JP

⑰ Erfinder:

Yamashita, Ichiro, Tsukuba-shi, Ibaragi, JP; Nanba,
Keiichi, Tsukuba-shi, Ibaragi, JP

⑱ Patentinhaber:

Matsushita Electric Industrial Co., Ltd., Kadoma,
Osaka, JP; Research Development Corp. of Japan,
Tokio/Tokyo, JP

⑲ Vertreter:

Abitz & Partner, 81679 München

⑳ Benannte Vertragstaaten:

DE, FR, GB, IT

㉑ Verfahren zur Bildung ultrafeiner Strukturen

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

23.12.96

1

91 312 089.5

GEBIET DER ERFINDUNG

5 Diese Erfindung betrifft ein Verfahren zur Bildung von Ultrafeinstrukturen. Insbesondere betrifft sie ein Verfahren zur Bildung von Ultrafeinstrukturen, die für die Verbindungsdrähte oder Verbindungsstücke von mikroelektronischen Schaltkreisen als umhüllte Leiter und auch als ultramikrofunktionelle Materialien geeignet
10 sind:

STAND DER TECHNIK

Der dramatische Fortschritt der Elektrotechnik während der vergangenen Jahre, verkörpert durch den Supercomputer, machte die
15 bislang unmögliche Hochgeschwindigkeits-Informationsverarbeitung möglich. Dies ist von Nutzen, um eine präzisere Wetterinformation einzuholen, eine größere Präzision und eine höhere Stufe bei Ultra-LSI-Konstruktionen zu erreichen und innovative Materialien zu entwickeln. Um in großem Maßstab und mit hoher Präzision Berechnungen durchzuführen, die in der Praxis angewendet werden können,
20 werden jedoch Computer benötigt, die mit einer Geschwindigkeit arbeiten, die mehrere zehn Mal so hoch ist wie die, die derzeit erreichbar ist, und für diesen Zweck sind Ultrahochgeschwindigkeitsoperatoren und Großspeicher erforderlich.

25 Andererseits, wenn wir die Signalübertragungsgeschwindigkeit in einem Computer betrachten, kann selbst Licht, das sich am allerschnellsten fortbewegt, nur 3 Zentimeter in 1/10 Milliarde Sekunden zurücklegen, wobei dies die Geschwindigkeit ist, die für Ultrahochgeschwindigkeitscomputer der Zukunft erwartet wird. Um die
30 Hardware-Leistung des Computers zu verbessern, ist es deshalb unerlässlich, das System zu miniaturisieren und kompakter zu konstruieren sowie die Schaltelemente mit höheren Geschwindigkeiten arbeiten zu lassen.

23.12.96

2

In Anbetracht dessen, wird der derzeit erhältliche Elektronikschaltkreis von Mikrongröße auf Submikrongröße reduziert, wobei erwartet wird, daß diese Verkleinerung noch weiter geht. Um diesem Trend zu folgen, ist nicht nur die Verkleinerung einzelner Schaltkreiselemente, sondern auch die der Drähte, die zur Verbindung derselben verwendet werden, notwendig.

Darüber hinaus wird beispielsweise ein Flüssigkristalldisplay (LCD) zunehmend kompakter und leichter, da der Flüssigkristall viel dünner und leichter als ähnliche Elemente ist und für dessen

10 Funktion und Betrieb sehr kleine Spannungen benötigt werden.

Dennoch, wenn wir das LCD weiter verkleinern wollen, wird es schwierig, die Qualitäten des Bildschirms (z.B. Kontrast und Sichtbarkeit) auf einem hohen Niveau zu halten. Wenn ein Zeichen auf einem LCD-Bildschirm, wie z.B. einem LCD-TV-Empfänger, abgebildet wird, wird jedes LCD normalerweise durch ein Verfahren gesteuert, das als Multi-Matrix-Elektrodensystem bekannt ist. Um die Display-Kapazität durch dieses Verfahren um das N-fache zu erhöhen, sind N-mal so viele Steuercreise und Anschlüsse erforderlich.

20 Um das verkleinerte System und die erhöhte Displaykapazität zu erhalten, wird es deshalb unerlässlich, die LCD-Steuerelektrodenstruktur und die elektronischen Schaltkreise zu verfeinern und feiner zu machen und auch die Verbindungen zwischen diesen auf eine kleinere Größe zu verringern.

25 Es ist jedoch äußerst schwierig, die derzeitigen mikroelektronischen Schaltkreise noch feiner und integrierter zu machen. Zum Beispiel sind die Drähte von Schaltkreisen, wie z.B. einer aufgebrachten metallischen Membran, die in Halbleiter-Chips verwendet wird, nicht isoliert; daher ist bei der Handhabung dieses unbedeckten Drahts nicht nur äußerste Vorsicht nötig, sondern er ist im wesentlichen auch ungeeignet für die dreidimensionale Verdrahtung. Für die Verbindung von Flüssigkristallelementen und elektronischen Steuercreisen werden z.B. Steckverbinder, elastische Verbindungs-

23.12.96

3

stücke oder flexible Verbindungsstücke verwendet. Diese Verbindungsstücke sind nur mit Dutzenden von bedeckten Leitern pro 1 mm versehen, und selbst bei Halbleitertechnologien liegt dieser Leiter höchstens in Submikron-Einheiten vor. Unter diesen Umständen hat 5 sich das Interesse auf die Biochip- und Bioschaltkreiskonstruktion gerichtet, welche die Integration von Proteinen und die Funktionen von Mikroorganismen ausnutzt.

10 Versuche zur Ultraverfeinerung und Ultraintegration unter Verwendung dieser Biodesign-Technologien werden auf den Gebieten der Medizin und der Mikromaschinentechnik angestellt. Die WO 88/08875 beschreibt einen Biochip-Sensor, bei dem bioaktive Moleküle, die in der Lage sind, mit einem Liganden in wässriger Lösung einen Komplex zu bilden, auf einem Substrat immobilisiert werden, und die Bindung dieser Moleküle und Liganden wird elektronisch 15 detektiert.

Unter den derzeitigen Umständen wurden jedoch praktisch keine speziellen Mittel zur Entwicklung dieser Biodesign-Technologien geschaffen. Zum Beispiel ist noch nicht bekannt, wie lebende Materie und organische Moleküle speziell an einem bestimmten Ort 20 oder bei einer bestimmten Struktur verwendet werden wird.

Zusammenfassung der Erfindung

Die vorliegende Erfindung hat das Ziel, ein Verfahren zur Bildung von Ultrafeinstrukturen zur Verfügung zu stellen, die als 25 Ultramikroleiter, welche die Mikro- und hochdichte Verdrahtung mikroelektronischer Schaltkreise ermöglichen, oder funktionelle Ultrafeinmaterialien, die zur Entwicklung von Mikromaschinen benötigt werden, geeignet sind.

Die vorliegende Erfindung stellt ein Verfahren zur Bildung 30 einer Ultrafeinstruktur zur Verfügung, umfassend die Schritte des Bindens von Atomen oder Molekülen an wenigstens ein Aminoende oder Carboxyende von Flagellinen oder in deren Nähe, wobei ein bakterielles Flagellum gebildet wird, und des Polymerisierens der

23.10.98

4

Flagelline.

Diese Erfindung stellt auch ein Verfahren zur Bildung einer Ultrafeinstruktur zur Verfügung, bei dem das durch das obige Verfahren hergestellte polymerisierte Flagellin in einem Magnetfeld ausgerichtet wird.

Kurze Beschreibung der Zeichnung

Fig. 1 zeigt eine Schnitt-Vorderansicht des zur Bildung der Ultrafeinstrukturen gemäß der Erfindung verwendeten bakteriellen Flagellums. Der Weiß-auf-schwarz-Teil in der Figur veranschaulicht die Form des Flagellins, eine Untereinheit des Flagellums, und jeder seiner Domänen (D1, D2 und D3).

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

Auf den folgenden Seiten werden detaillierte Beschreibungen des Prinzips und Aufbaus der vorliegenden Erfindung beschrieben werden.

Die Ultrafeinstruktur gemäß der vorliegenden Erfindung ist dadurch gekennzeichnet, daß sie erzeugt wird durch Verwendung der für ein Flagellin, eine Untereinheit eines bakteriellen Flagellums, einzigartigen Eigenschaften, d.h. der Eigenschaften von Selbstzusammenbau und Aminosäuresequenz.

Ein Flagellum ist ein Helixfilament, das aus einzelnen Arten von Proteinen, die als Flagellin bekannt sind, besteht und in der Mitte ein Loch mit einem Durchmesser von 6 nm besitzt, das sich durch es hindurch erstreckt. Sein Gesamtdurchmesser ist so fein wie etwa 25 nm, das Flagellum ist jedoch in der Größe in der Längsrichtung nicht limitiert und erstreckt sich normalerweise über ein Mehrfaches (10-20 μ m) seines bakteriellen Körpers (siehe Namba et al. in *Nature*, 342, 648-654 (1989)).

Die Erfinder der vorliegenden Erfindung haben entdeckt, daß das Flagellin aus drei Domänen (D1, D2, D3) besteht, wie es in FIG. 1 gezeigt ist, und daß die D1-Domäne, die sich im zentralen Kern-

23.12.90

5

teil befindet und einen zentralen Kanal bildet, bei einer selbst-zusammenbauenden Bildung der Flagellen beteiligt ist. Korrelationen zwischen jeder Domäne und den Aminosäuresequenzen zeigten, daß die D1-Domäne aus den Enden einer Flagellin-Aminosäuresequenz, d.h. dem 5 Aminoende und dem Carboxylende, besteht.

Die vorliegende Erfindung entstand aus der oben angegebenen sehr bedeutenden Erkenntnis heraus.

Das Flagellum wird wiederaufgebaut, indem die Flagelline des Flagellums monomerisiert werden, Atome oder Moleküle verschiedener 10 Metalle, Halbmetalle oder Nichtmetalle chemisch durch kovalente Bindung, Wasserstoffbindung usw. an das Amino- oder Carboxylende der D1-Domäne gebunden werden, dann diese Flagelline in selbst-zusammenbauender Weise polymerisiert werden. Folglich besitzt das so wiederaufgebaute Flagellum ein Band, das auf seiner peripheren 15 Innenfläche aus diesen Atomen und Molekülen besteht. Wenn leitende Metalle als Atome verwendet werden, wird zum Beispiel ein leitendes Band gebildet. Dieses leitende Band ist vollständig mit Flagellinen, Isolatoren, bedeckt, und somit kann eine bedeckte leitende Ultramikrostruktur mit μm langen Rillen und einem Durchmesser von 20 etwa 20 nm hergestellt werden. Wenn photoempfindliche Moleküle verwendet werden, wird eine Ultrafeinstruktur gebildet, die aus photoempfindlichen funktionellen Bandbereichen besteht.

Von den Domänen, aus denen die Flagelline bestehen, ist die Aminosäuresequenz der D1-Domäne praktisch gleich mit derjenigen in 25 allgemeinen Bakterienarten. Demgemäß kann eine breite Vielzahl von Flagellinen bei dieser Erfindung verwendet werden. Da die Flagelline der Salmonella-Stämme leicht erhältlich sind und sich durch Linearität auszeichnen, sind sie für die vorliegende Erfindung besonders bevorzugt.

30 Im folgenden wird eine detailliertere Beschreibung eines Verfahrens zur Bildung von Ultrafeinstrukturen gemäß der vorliegenden Erfindung zusammen mit Beispielen angegeben.

(1) Herstellung von Flagellinen

Flagelline, eine Untereinheit des Flagellums, können durch genetische Manipulation synthetisiert werden, und können auch aus dem Flagellum von Bakterien durch das übliche Verfahren extrahiert und hergestellt werden. Zum Beispiel wird eine Bakterienkultur der 5 Scherkraft ausgesetzt, die in einer gepufferten Flüssigkeit, bestehend aus Tris 20 mM (pH 7,8) + NaCl 0,15M, erzeugt wird. Dann werden die Flagellen durch Zentrifugaltrennung gesammelt. An- schließend werden diese Flagellen zehn Minuten lang bei 65°C wärmebehandelt, was Flagelline als eine einfache Substanz monomerisierte Flagellen ergibt.

(2) Binden von Atomen oder Molekülen

Atom- oder Molekülverbindungen werden an das Aminoende oder das Carboxylende von Proteinen, aus denen die D1-Domäne von einem Flagellin besteht, durch eine bekannte chemische Reaktion 15 gebunden.

In diesem Fall gibt es keine speziellen Einschränkungen bezüglich der Art der Atome oder Moleküle. Metall-, Halbleiter- oder Nichtmetallatome oder photoleitende, magnetisch leitende und andere funktionelle organische oder anorganische Verbindungen 20 können eingesetzt werden. Diese Atome oder Moleküle können chemisch durch kovalente Bindung oder Wasserstoffbindung an das Aminoende oder Carboxylende gebunden werden.

Zum Beispiel können insbesondere Metall- oder Halbleiteratome oder -moleküle an Aminosäurereste auf den Wandflächen des Lochs in 25 der Mitte des Flagellums gebunden werden, und die folgenden Bindungen können als Beispiele genannt werden:

Hg (Quecksilber): Bindung an Arg (Arginin), Cys (Cystein) und dergleichen.

Ag (Silber): Bindung an His (Histidin).

Sm (Samarium): Bindung an Glu (Glutaminsäure).

Andere, wie Pt, Au und Pd, werden an Aminosäurereste gebunden.

Silicium und Germanium können als Halbleiter aufgefaßt

23.12.96

7

werden. Sie können eingebaut werden, indem man Silicium kovalent an das Schwefelatom im Cysteinrest oder Methioninrest binden läßt, da es für sie schwierig ist, sich so wie sie sind an Aminosäuren zu binden.

5 Bei den Nichtmetallen kann beispielsweise ein Polymer, das mit Ultraviolettrahmen vernetzt wurde, an das Aminoende oder das Carboxylende des Flagellins gebunden werden.

(3) Wiederaufbau des Flagellums.

Ammoniumsulfat wird zu einer Flagellinlösung, worin jedes 10 Flagellin an ein Atom oder Molekül gebunden ist, hinzugegeben, was dazu führt, daß das Flagellin in einer selbstzusammenbauenden Weise polymerisiert und die Flagellen wiederaufgebaut werden.

In diesem Fall hängt die Länge der Flagellen von der Dichte 15 der Flagelline in einer Pufferflüssigkeit und von der Dichte des hinzugebenden Ammoniumsulfats ab. Wenn zum Beispiel 1M Ammoniumsulfat zu 3 bis 10 mg/ml Flagellinlösung hinzugegeben wird, werden etwa 0,5 μ m Flagellum in mehreren Minuten gebildet. Wenn jedoch das Ammoniumsulfat 0,5M ist und das Flagellin 1 mg/ml oder weniger ist, dauert es mehr als 10 Stunden, um 10 bis 100 μ m Flagellum zu 20 bilden. Demgemäß ist es bevorzugt, 0,5 bis 2M Ammoniumsulfat zu 1 bis 10 mg/ml Flagellinlösung hinzuzugeben.

Schließlich werden die Ultrafeinstrukturen mit den angegebenen Atomen oder Molekülen kontinuierlich an den Wandflächen des Lochs in der Mitte des Flagellums durch Verwendung von Tris 20 mM 25 (pH 7,8) + NaCl 0,15M, Gly 0,2M (pH 8,0) und dergleichen als eine Pufferflüssigkeit vervollständigt.

Wenn leitendes Metall an das Loch in der Mitte einer solchen Ultrafeinstruktur gebunden ist, wird das flagelläre Protein ein Isolator, und somit wird diese Struktur ein ultrafeiner bedeckter 30 elektrischer Draht, der nur in seiner Mitte elektrischen Strom leitet. Da dieser elektrische Draht vollständig bedeckt ist, kann er in einer beliebigen Form als bedeckter Draht verwendet werden. Insbesondere wenn Flagelline, an die Metall gebunden ist, in

23.12.98

8

vorgegebenen Intervallen während der Polymerisation zugegeben werden, wird die resultierende Struktur ein Draht, der in bestimmten Intervallen eine Elektrode besitzt. Wenn diese bedeckte leitende Ultrafeinstruktur in direkten Kontakt mit Metall gebracht wird,

5 fließt ein Tunnelstrom, wodurch ein Josephson-Element gebildet wird.

Ferner können bei den durch das obige Verfahren gebildeten Ultrafeinstrukturen die Atome oder Moleküle, die an das Loch in der Mitte gebunden sind, durch Zuführen thermischer oder optischer

10 Energie miteinander verbunden oder verknüpft werden. Zum Beispiel werden Flagellum-Polymeren, an die nichtmetallische Polymeren gebunden sind, durch Vernetzung der jeweiligen Polymeren zu spiralförmigen ultrafeinen Linienstrukturen. Dadurch können diese direkt als ultrafeinstrukturierte funktionelle Materialien für Federn verwendet werden.

Ultrafeine Linienstrukturen, in denen die Atome oder Moleküle in dem Loch in der Mitte auf diese Weise miteinander verbunden oder vernetzt sind, können die Flagelline, aus denen deren Umgebungen bestehen, durch Erwärmen zersetzen oder eliminieren. Durch dieses

20 Vorgehen ist es möglich, weitere Ultrafeinstrukturen zu bilden, die nur aus kontinuierlichen Atomen oder Molekülen bestehen.

Im folgenden wird ein Verfahren zur Bildung weiterer Ultrafeinstrukturen gemäß der vorliegenden Erfindung detailliert beschrieben.

25 Dieses Verfahren bildet Ultrafeinstrukturen unter Verwendung der magnetischen Konfiguration des Flagellums, welche die Erfinder dieser Erfindung gefunden haben, zusammen mit dessen obengenannten Selbstzusammenbau- und Aminosäuresequenzeigenschaften.

In der folgenden Beschreibung wird ein Beispiel für ein
30 Verfahren zur Bildung eines eindimensionalen Leiters angegeben, bei dem ultrafeine bedeckte Leiter parallel in ultrafeinen Abständen auf dem Substrat angeordnet sind.

Jeder ultrafeine bedeckte Leiter verwendet Flagellen, an

23.12.98

9

deren Wandinnenflächen leitende Materialien gebunden sind. Bei diesem Flagellum vom Salmonella-Stamm ist speziell die lineare Mutation erwünscht. Diese Flagellen werden in mehreren Prozent in

Gly 0,2M (pH 8,0) + 10 mM Ammoniumsulfat gelöst und diese Lösung

5 auf das Substrat titriert. Wenn dieses Substrat sich in einem Magnetfeld befindet, so daß die Oberfläche, auf welche die Lösung titriert wird, parallel dazu wird, wird jedes Flagellin, an das leitende Materialien gebunden sind, aufgrund seiner magnetischen Konfiguration parallel in Richtung des Magnetfelds als Achse

10 ausgerichtet. Schließlich, wenn man die Lösung trocknen läßt, wird ein eindimensionaler Leiter mit ultrafeinen Abständen auf dem Substrat ausgebildet. Wenn man sie trocknen läßt, wird der Vorgang derart durchgeführt, daß es etwa eine Stunde dauern wird, bis die Lösung trocken ist.

15 In dem eindimensionalen Leiter, der dabei gebildet wird, ist jeder Leiter darin mit Proteinen bedeckt. Und somit kann, wenn das Ende eingepreßt ist, leicht eine elektronische Verbindung mit den Elektrodenenden erhalten werden, und es kann zum Beispiel als Ver binder von Feinelektronik-Schaltkreisen verwendet werden.

20

AUSWIRKUNGEN DER ERFINDUNG

Wie es oben detailliert beschrieben worden ist, stellt die Erfindung Ultrafeinstrukturen zur Verfügung, die bakterielle Flagellen als eine Ausführungsform der Biodesign-Technologie

25 verwenden.

Diese Ultrafeinstrukturen sind zur dreidimensionalen Verdrahtung oder als Verbindungen von mikroelektronischen Schaltkreisen als bedeckte Mikroleiter sowie für Mikromaschinen als verschiedene funktionelle Materialien geeignet.

30

23.12.96

1

91 312 089.5

5

PATENTANSPRÜCHE

1. Ein Verfahren zur Bildung einer Ultrafeinstruktur, welches das Binden von Atomen oder Molekülen an wenigstens das Aminoende oder das Carboxylende von einem oder mehreren Flagellinen und das 10 Zusammenfügen einer Reihe der Flagellinen, um die Struktur zu bilden, umfaßt.
2. Ein Verfahren gemäß Anspruch 1, bei dem die zusammengefügten Flagelline erwärmt oder bestrahlt werden, um zu bewirken, daß die 15 daran gebundenen Atome oder Moleküle miteinander verbunden oder vernetzt werden.
3. Ein Verfahren gemäß Anspruch 2, bei dem die Flagelline von zusammengefügten Flagellinen, bei denen die daran gebundenen Atome 20 oder Moleküle miteinander verbunden oder vernetzt sind, entfernt werden, um eine Ultrafeinstruktur zu bilden, die nur aus kontinuierlichen Atomen oder Molekülen besteht.
4. Ein wie in Anspruch 1 beanspruchtes Verfahren, welches 25 umfaßt, daß die zusammengefügten Flagelline in einem Magnetfeld in einer Richtung ausgerichtet werden.
5. Ein Verfahren gemäß irgendeinem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem das bakterielle Flagellin eine Untereinheit eines bakteriellen Flagellums ist.
6. Ein wie in Anspruch 5 beanspruchtes Verfahren, bei dem das Flagellin von einer Salmonella-Art abstammt.

23.12.96

2

7. Ein wie in irgendeinem der vorhergehenden Ansprüche beanspruchtes Verfahren, bei dem die an die Amino- oder Carboxylenden gebundenen Atome oder Moleküle ein elektrisch leitendes Filament bilden.

5

8. Eine Ultrafeinstruktur, die durch das Verfahren nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 7 erhältlich ist.

9. Flagellin-Moleküle mit wenigstens an das Aminoende oder das

10. Carboxylende gebundenen Atomen oder Molekülen, so daß beim Zusammenfügen eine flagellinartige Struktur gebildet wird.

10. Eine Gruppe von flagellinartigen Strukturen, die wie in Anspruch 9 beanspruchte Flagellin-Moleküle enthalten.

15

23.12.96

91 312 089.5

1/1

Fig. 1

